

氏 名	TELENGECH Paul Kipkemboi		
授与した学位	博 士		
専攻分野の名称	農 学		
学位授与番号	博甲第	6 5 1 1	号
学位授与の日付	2 0 2 1 年 9 月 2 4 日		
学位授与の要件	環境生命科学研究科 農生命科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)		
学位論文の題目	Molecular and biological properties of diverse fungal and plant partitiviruses (多様な菌類および植物パルティティウイルスの分子生物学的・生物学的性状)		
論文審査委員	教授 鈴木 信弘	教授 ガリス イバン	准教授 近藤 秀樹
学位論文内容の要旨			
<p>Viruses, which are the most abundant biological entities in the globe, are classified into six realms based on their genome types. Among them are viruses with double-stranded (ds) RNA genomes exemplified by omnipresent partitiviruses, members of the family <i>Partitiviridae</i>. Their bi-segmented dsRNA genome has a size range from 3.1 to 4.8 kbp that encode an RNA-dependent RNA polymerase (RdRP) and a capsid protein (CP). Partitiviruses are phylogenetically grouped into five genera (<i>Alpha</i>-, <i>Beta</i>-, <i>Gamma</i>-, <i>Deltapartitivirus</i> and <i>Cryspovirus</i>). Their hosts include plants, fungi, and protozoa, and have recently expanded to arthropods. While partitivirus transmission is mainly vertically and/or horizontally among closely related species within the host kingdoms, phylogeny has hinted at the possibility of lateral transmission events between plants and fungi. Largely because of the unavailability of experimental inoculation methods for most partitiviruses, little is known about their biology. This study unraveled the diversity of partitiviruses in biological properties such as host range, replication strategy, and symptom and host defense induction.</p> <p>A total of 20 partitiviruses (7 alpha- and 13 betapartitiviruses), belonging to 15 novel (RnPV11-25) and 5 established species, were molecularly characterized from 16 field fungal isolates of the phytopathogenic fungus <i>Rosellinia necatrix</i>. It is noteworthy that one <i>R. necatrix</i> fungal strain W744 was infected with five novel partitiviruses and provided a clue as to how recombination events shapes diversity of segmented viruses. After developing a virion transfection method, these viruses were experimentally introduced into the model fungus <i>Cryphonectria parasitica</i> (EP155) and the standard <i>R. necatrix</i> strain (W97) for biological characterization. For example, RnPV11 and RnPV20 altered the growth pattern of infected fungal colonies and induced strong host defense in <i>C. parasitica</i>, whereas RnPV3 and RnPV19 did not. Different virus accumulation levels were also apparent among the partitiviruses in the same host fungal genetic background. Surprisingly, some of the newly characterized fungal partitiviruses were shown to be replicated not only in plant but also in insect cells. Betapartitiviruses (RnPV6/ RnPV11/RnPV18) replicated at a higher level in plant protoplasts (<i>Nicotiana benthamiana</i>, carrot and tobacco BY-2) compared to alphapartitiviruses (RnPV2/RnPV10/ RnPV19). The betapartitivirus (RnPV18) accumulated much higher in <i>Drosophila melanogaster</i> S2 cells compared to RnPV19 (alphapartitivirus) which, however, showed greater replication in <i>Spodoptera frugiperda</i> Sf9 cells than RnPV18. Intriguingly, RnPV19 could infect the cells without the need of any transfection reagent. Analyses of small interfering RNAs (siRNAs) generated in transfected <i>N. benthamiana</i> and partitivirus accumulation levels in <i>N. benthamiana</i> RNAi mutant lines confirmed the active antiviral defense targeting the partitiviruses. A similar analysis with inoculated insect cells is under way.</p> <p>While partitivirus replication is assumed to occur in the cytoplasm, <i>in vivo</i> and <i>in vitro</i> subcellular localization studies have previously implicated variation in intracellular distribution of CP between genera. This study indicated that the CPs of tested alpha- and deltapartitiviruses were distributed in the cytoplasm and nucleus of tobacco BY-2 cells and <i>N. benthamiana</i>. By contrast, the betapartitiviral CPs were exclusively localized in the cytoplasm. This together with previous studies further suggested different replication strategies among partitiviruses of different genera.</p> <p>Altogether, these findings greatly expanded our knowledge about the biological diversity of partitiviruses. Particularly, the finding of three-way cross-kingdom replication of a single partitivirus has a great scientific impact. Moreover, the study sets a solid foundation for exploring the molecular mechanisms governing the biological properties of partitiviruses.</p>			

論文審査結果の要旨

ウイルスは地球上の生きとし生けるもの全てから見つかる。それらはゲノム型により6つの域(realm)に分類される。その中の一つが2本鎖RNAウイルスで、普遍的に存在するパルティティウイルスは代表格である。パルティティウイルス科は5つの属からなり、宿主が植物、菌類、原虫と異なる。最近、これらに加え昆虫感染性のパルティティウイルスが発見された。接種方法がほとんどのパルティティウイルスで確立されておらず、その宿主域、病徴発現、宿主への適応、宿主防御・反撃など生物学的性状は不明な点が多い。本研究では、菌類／植物パルティティウイルスの分子生物学的・生物学的多様性を明らかにした。

まず、植物病原糸状菌である白紋羽病菌から合計15の新種パルティティウイルス(RnPV11~RnPV25)とアカツメクサから新規植物パルティティウイルス(RCCV3)のゲノム構造を解明した。パルティティウイルス接種法を開発し、上記菌類パルティティウイルスと既報の植物パルティティウイルスの生物学的性状を解析した。その結果、供試した白紋羽病菌のパルティティウイルスは全てクリ胴枯病菌に感染性を示したが、病徴発現程度、ウイルス蓄積量、抗ウイルスRNAiの誘導で大きく異なることが示された。また、複数の菌類パルティティウイルスが植物(ニンジン、タバコ)プロトプラストで複製した。さらに、RnPV18が植物細胞に限らず昆虫細胞でも増殖することを発見した。すなわち、1種のパルティティウイルスが菌界、植物界、動物界の細胞で複製可能であることを示した世界初の発見である。

以上の成果は、1編の参考原著論文、4編の関連原著論文、7つの学会発表として、公表してある。

本研究は、パルティティウイルス生物学的違いの分子機構の解明につながる土台となる。TELENGECH氏は、博士号に値する上記のように十分な研究成果を挙げ、またその過程で十分な研鑽を積んだことを学位論文審査員として認める。